

日 本 国 特 許 庁

JAPAN PATENT OFFICE

10/509839

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2002年 4月 1日

出 願 番 号

Application Number:

特願2002-098977

[ST.10/C]:

[JP2002-098977]

出 願 人

Applicant(s):

科研製薬株式会社

REC'D 23 MAY 2003

WIPO

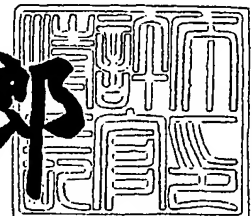
PCT

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2003年 5月 9日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

太田信一郎



出証番号 出証特2003-3033798

Best Available Copy

【書類名】 特許願
【整理番号】 KP-10360
【提出日】 平成14年 4月 1日
【あて先】 特許庁長官殿
【発明者】
 【住所又は居所】 静岡県藤枝市源助 3 0 1 科研製薬株式会社総合研究所
 内
 【氏名】 福永 和弘
【発明者】
 【住所又は居所】 静岡県藤枝市源助 3 0 1 科研製薬株式会社総合研究所
 内
 【氏名】 緒方 裕二
【発明者】
 【住所又は居所】 静岡県藤枝市源助 3 0 1 科研製薬株式会社総合研究所
 内
 【氏名】 古川 明彦
【発明者】
 【住所又は居所】 静岡県藤枝市源助 3 0 1 科研製薬株式会社総合研究所
 内
 【氏名】 今野 芳浩
【特許出願人】
 【識別番号】 000124269
 【氏名又は名称】 科研製薬株式会社
【代理人】
 【識別番号】 100078662
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 津国 肇
 【電話番号】 03(3502)7212

【選任した代理人】

【識別番号】 100075225

【弁理士】

【氏名又は名称】 篠田 文雄

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 023836

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 塩基性線維芽細胞増殖因子含有歯科用粘稠製剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 塩基性線維芽細胞増殖因子（b F G F）を有効成分として含有し、更に増粘剤を含有する歯科用粘稠製剤。

【請求項 2】 増粘剤が、ヒドロキシプロピルセルロース、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコールエステル、カルボキシビニルポリマー、カルメロースナトリウム、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリアクリル酸、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸部分中和物、ポリビニルアルコール、メチルセルロース、キサンタンガム、コンドロイチン硫酸、及びコンドロイチン硫酸ナトリウムから選択される、請求項 1 記載の歯科用粘稠製剤。

【請求項 3】 増粘剤が、ヒドロキシプロピルセルロースである、請求項 1 記載の歯科用粘稠製剤。

【請求項 4】 歯周病の処置用である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項記載の歯科用粘稠製剤。

【請求項 5】 b F G F 含有量が、製剤の総重量に対して 0. 0 0 0 1 ～ 2 0 重量％である、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項記載の歯科用粘稠製剤。

【請求項 6】 請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項記載の歯科用粘稠製剤を調製するためのキットであって、b F G F、増粘剤、必要であれば不活性で無毒性の添加剤、及び溶解液を含むキット。

【請求項 7】 請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項記載の歯科用粘稠製剤を調製する方法であって、b F G F、増粘剤、及び必要であれば不活性で無毒性の添加剤を溶解液に溶解することを特徴とする方法。

【請求項 8】 溶解液が水である、請求項 7 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、歯周病などの各種歯周疾患の処置に使用しうる歯科用粘稠製剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

bFGF、つまり塩基性線維芽細胞増殖因子は、線維芽細胞の増殖を著しく促進する蛋白質として見出されたが、その後、*in vitro*において線維芽細胞の増殖を促進するのみならず、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、上皮細胞などの種々の細胞に対してもその増殖や遊走、分化に対する促進作用を有することが明らかにされてきた。また、*in vivo*においても、強力な血管新生作用を有することが明らかになってきた。bFGFはこのような薬理作用を持つことから、難治性皮膚潰瘍の治療剤として開発が進められ、臨床研究において優れた治療効果と安全性が確認され、現在、市販されている。また、bFGFは骨組織に対しても有用な作用を示し、骨折治癒を促進するだけでなく、投与した局所において骨組織の形成を誘発する新しいタイプの骨形成促進剤として、骨折をはじめ骨形成が求められる種々の骨疾患への臨床応用が期待されている。更にbFGFは、歯周組織欠損部位へ投与されると、歯槽骨形成（骨密度、歯槽骨面積、骨梁面積）を促進し、露出歯根面におけるセメント質形成及び歯根膜再生を促進することにより、歯周組織をバランス良く再生することが明らかになってきたことから、歯周病治療の最終目的である再生治癒、新付着治癒を導くのに有効であることが認められているほか、抜歯後及び嚢胞又は口腔がん摘出後の歯周組織の修復、インプラント材の定着促進、う蝕により欠損した象牙質の再生など各種歯周疾患の処置に有用であると考えられている。なかでも慢性的な組織欠損である歯周病への適応が考えられている（WO95/05840）。

【0003】

一方、bFGFは、強力かつ多様な薬理作用を有することを考慮すると、bFGFの作用を必要とする患部のみに直接投与されるのが望ましく、bFGFを各疾患に効率よく適応するにはそれぞれに適した製剤設計が必要である。実際、難治性皮膚潰瘍には噴霧製剤、骨疾患に対してはゲル製剤のように疾患に適した製剤化が行われているが、歯周病などの各種歯周疾患に直接的に効率よく適用する

ことができる有用な b F G F 製剤は、これまで開発されていなかった。

【0004】

一方、一般に歯科用製剤の剤型としてはパスタ剤、液剤、軟膏剤及びゲル剤などが知られているが、b F G F は物理化学的に不安定であること、また薬効用量が低含量であることから、その剤型や製造条件に制約を受け、特にパスタ剤や軟膏剤の開発は困難であると考えられていた。その一方、b F G F を含有する液剤及びゲル剤は用時調製型の製剤とすることで、開発可能と考えられていた。しかし、各種歯周疾患、特に歯周病治療における b F G F の臨床応用においては、フラップ手術時（歯肉を開き歯石等を除去する術式）に歯槽骨再生を期待して歯肉内へ投与することが予想されるが、液剤では上顎部への投与の場合に液垂れにより患部に製剤が十分な時間保持されず、患部へ効率よく投与できないことが懸念される。そこで、その欠点を補う製剤としてゼリー状のゲル製剤が考えられるが、ゲル製剤は、低含量の薬剤を定量的に多様な形状からなる患部に均一に塗布するのに好ましい剤型であるとは言えない。特にゲル製剤の場合、その基剤が患部に長期間残存すると組織の修復を阻害することが予想され、さらに、患者が異物としての不快感を訴えることも予想されるため、その基剤は投与後一定の時間患部に保持された後は速やかに分解もしくは消失するような高機能性のものである必要があるが、このような基剤は、高価であるという欠点を有している。

【0005】

従って、b F G F を歯周病などの各種歯周疾患の治療剤として開発するためには、b F G F を安定に保持し、低含量の b F G F を小さな容積からなる患部に、液垂れを抑え、多様な形状に均一に塗布することができ、塗布後は組織の修復を阻害しない程度に貯留した後は速やかに分解もしくは消失し、より効率的に塗布できる安価な材料からなる歯科用製剤の開発が望まれていた。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

本願発明者らは、上記の課題を解決すべく鋭意研究した結果、b F G F を、溶液にした場合に一定の粘度を維持することができる増粘剤と配合し、粘稠性の製剤とすることによって、b F G F を安定に保持し、低含量の b F G F を定量的か

つ多様な形状の患部に均一に塗布することができ、局所貯留性にすぐれた製剤が得られることを発見し、本発明を完成するに至った。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明は、塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）を有効成分として含有し、更に増粘剤を含有する歯科用粘稠製剤に関する。本発明の歯科用粘稠製剤においては、一定の粘度を有する増粘剤を配合することにより、粘稠製剤の適度な粘性と局所貯留性が確保され、それにより患部へのbFGF投与をより確実なものとすることができる。

【0008】

【発明の実施の形態】

本発明の歯科用粘稠製剤は、bFGFを有効成分として含有し、更に増粘剤を含有する歯科用粘稠製剤である。ここでいう粘稠製剤とは、25℃で、E型粘度計を使用して測定した場合に約20～25,000mPa・sの粘度を示す製剤を意味する。本発明の歯科用粘稠製剤は、好ましくは、約1,000～20,000mPa・s、特に好ましくは約3,000～15,000mPa・sの粘度を有する。

【0009】

本発明の歯科用粘稠製剤に含有されるbFGFとしては、哺乳動物由来のものがあげられる。哺乳動物としては、ヒト、サル、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウマなどがあげられる。これらの哺乳動物からは、公知の方法によりbFGFを得ることができ、また動物由来のbFGF、例えばウシbFGFは、複数の会社から試薬として市販されている。

【0010】

また、該bFGFとしては、組換えDNA技術によって製造されたものを用いることもできる。組換えDNA技術によりbFGFを製造するには、例えば特公表63-500843号に記載の技術を用いることができる。また組換えDNA技術により製造されたヒトbFGFは、試薬として販売されており、一般名：トラフェルミン（遺伝子組換え）を、好ましく使用することができる。

【0011】

本願の歯科用粘稠製剤の b F G F 濃度は、その歯周疾患に対する効果を考慮すると、製剤の総重量に対して、好ましくは約 0.0001~20 重量%、より好ましくは約 0.001~10 重量%、最も好ましくは約 0.01~1 重量%である。

【0012】

本発明の歯科用粘稠製剤に含有される増粘剤としては、溶液とした場合に、上記の粘度（約 20~25, 000 mPa·s）を示すことができ、b F G F の安定性に悪影響を及ぼさず、かつ薬学的に許容しうる増粘剤であれば任意のものを任意の濃度で 사용할 ことができる。具体的には、ヒドロキシプロピルセルロース、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコールエステル、カルボキシビニルポリマー、カルメロースナトリウム、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリアクリル酸、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸部分中和物、ポリビニルアルコール、メチルセルロース、キサンタンガム、コンドロイチン酸、及びコンドロイチン硫酸ナトリウムなどを用いることができる。なかでも、b F G F の安定性に対する影響を考慮すると、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、ヒアルロン酸ナトリウム、キサンタンガム、及びコンドロイチン硫酸ナトリウムを好ましく使用することができるが、特にヒドロキシプロピルセルロースを好ましく使用することができる。

【0013】

これらの増粘剤のほかにも、アラビアゴム、アラビアゴム末、グアガム、グルコノ- δ -ラクトン、ゼラチン、デキストラン70、デキストリン、トラガント、トラガント末、ポビドン、水アメ、ロジン、ポリオキシエチレン（160）ポリオキシプロピレン（30）グリコール、ポリオキシエチレン（200）ポリオキシプロピレングリコール（70）、及びメチルビニルエーテルと無水マレイン酸との共重合体などの増粘剤も使用することができる。

【0014】

本発明の歯科用粘稠製剤において増粘剤として特に好ましく使用することができるヒドロキシプロピルセルロースは、セルロースのヒドロキシプロピルエーテ

ル誘導体であり、乾燥したものを定量するとき、ヒドロキシプロピル基53.4～77.5%を含む（日本薬局方第14改正D）ものが好ましい。HPCは水に溶解すると粘稠性の液となるが、水溶液にした場合に25℃においてE型粘度計を使用して測定した場合に約20～25,000 mPa・sの粘度を示すHPCであれば、任意の分子量のHPCを上記の粘度を示す濃度で使うことができる。しかし、低濃度で高い増粘性を示す、分子量約100,000～500,000のものを好ましく使うことができる。例えば分子量約110,000～150,000のHPCを使う場合であれば、日本曹達（株）製のHPC-Mを、製剤全体に対して、好ましくは約2～18重量%の割合で、より好ましくは約3～10重量%の割合で使うことができる。また、分子量約250,000～400,000のHPCを使う場合であれば、日本曹達（株）製のHPC-Hを、製剤全体に対して、好ましくは約1～9重量%の割合で、より好ましくは約2～6重量%の割合で使うことができる。上記の粘度を達成することができる範囲で、異なる分子量のHPCを適宜混合して使うこともできる。

【0015】

また、ヒアルロン酸ナトリウム、キサンタンガム、及びコンドロイチン硫酸ナトリウムを増粘剤として使う場合も、上記の粘度を達成することができる範囲の濃度で使うことができる。例えばヒアルロン酸ナトリウムを使う場合、分子量約60万～90万のものであれば、約1重量%の濃度で使うことができる。キサンタンガムを使う場合、分子量約200万のものであれば、約1重量%の濃度で使うことができる。その他の増粘剤についても、上記の粘度を達成することができる範囲の濃度で使うことができる。

【0016】

本発明の歯科用粘稠製剤には、必要に応じて更に糖類、pH調節剤、保存剤、キレート剤、乳化剤、懸濁化剤、安定剤、着色料などの薬学的に許容しうる添加剤を各種含有させることができる。糖類としては、白糖、トレハロース等が挙げられ、特に白糖を好ましく使うことができる。また、本発明の歯科用粘稠製剤のpHは、約4.5～8、特に4.5～6.5に保持するのが望ましく、このpHを保持するためのpH調製剤としては、クエン酸とクエン酸ナトリウム又は

酢酸と酢酸ナトリウムからなる緩衝液が挙げられる。防腐剤及びキレート剤としては、それぞれ塩化ベンザルコニウム及びエデト酸ナトリウムが挙げられる。

【0017】

本発明の歯科用粘稠製剤は、b F G Fに上記増粘剤を配合し、溶解液に溶解して所定の粘度を有する溶液とすることにより調製することができる。製剤全体に対するb F G Fの比率は、上述したように、好ましくは約0.0001～20重量%、より好ましくは約0.001～10重量%、最も好ましくは約0.01～1重量%であり、このような割合になるようにb F G Fを配合する。また、溶解液としては、水を好ましく使用することができる。製剤全体に対する増粘剤の使用比率は、用いる増粘剤の種類により異なるが、溶液の状態で約20～25,000 mPa・sの粘度を示す範囲で決定することができる。例えば増粘剤として分子量約110,000～150,000のHPCを用いる場合、約2～18重量%の割合、好ましくは約3～10重量%の割合になるように増粘剤を溶解液に溶解する。また、分子量約250,000～400,000のHPCを使用する場合であれば、約1～9重量%の割合、好ましくは約2～6重量%の割合になるように増粘剤を溶解液に溶解する。

【0018】

本発明の歯科用粘稠製剤を調製するには、例えば、粉末状のHPCにb F G Fの水溶液を添加し、混合することにより、又はHPCを水に溶解することによりHPC粘稠水溶液を得、これにb F G Fの水溶液を混合するなどの方法を用い、適宜必要に応じて調製することができる。調製のための具体的方法については、以下の実施例に各種具体的に記載するが、これらに限定されず、当業界の技術常識の範囲内で適宜調製することができる。更に、上記のようにして調製した本発明の歯科用粘稠製剤は、b F G Fの長期安定性を確保するためにその製剤を凍結乾燥し、用時、水を加えて再調製することも可能である。また、b F G Fは、凍結乾燥状態で保存しておき、用時、HPCの粘稠水溶液を加え調製してもよい。

【0019】

したがって、本発明はまた、本発明の歯科用粘稠製剤を調製するためのキットであって、b F G F、増粘剤、必要であれば不活性で無毒性の添加剤、及び溶解

液を含むキット、並びに本発明の歯科用粘稠製剤を調製する方法であって、bFGF、増粘剤、及び必要であれば不活性で無毒性の添加剤を溶解液に溶解することを特徴とする方法にも関する。

【0020】

また、本発明の歯科用粘稠製剤は、適用法によっては、無菌状態であることが必要であるため、調製するにあたっては、予め、bFGF溶液をろ過滅菌したり、HPC粉末を放射線滅菌や乾熱滅菌したり、また、HPC粘稠液をオートクレーブ滅菌するなどの方法により、無菌状態を確保することができる。

【0021】

上記の方法により調製した本発明の歯科用粘稠製剤は、軟膏剤、ゲル剤、パスタ剤及び液剤などと同様な方法により、各種歯周疾患の患部へ直接投与することができる。例えば、18G程度の太さの注射針を取り付けた2mlの注射筒で粘稠製剤を適量取り、患部に広くおよび大量に投与する場合は、注射針は18Gのまままで投与する。また、歯周ポケットのように小さな隙間に投与する場合は、26G程度の注射針に付け直して投与することもできる。簡易型注射器具のようなキット製品のリザーバー部分にあらかじめ充填しておき、投与することも可能である。

【0022】

また、患部に直接又はヘラなどに別にとって塗ることも可能である。それ以外にも、加圧式定量ポンプなどから必要量を取り、患部に直接又はヘラなどで別にとって塗ることが可能である。

【0023】

本発明の歯科用粘稠製剤を適用する量は、適用する歯周疾患の種類、重症度、罹患範囲、患者の性別、体重などによって適宜変更することができるが、一般的には、ヒトの場合、一度の適用により約0.1～3000 μ g、好ましくは1～1500 μ gのbFGFが患部に適用される量の製剤を適用するのが好ましい。

【0024】

本発明の歯科用粘稠製剤は、上述したように歯周病をはじめとして抜歯後及び嚢胞又は口腔がん摘出後の歯周組織の修復、インプラント材の定着促進、う蝕に

より欠損した象牙質の再生など歯周疾患の治療又は予防を目的として適用することができる。例えば歯周病の場合は、直接患部へ投与することができきるが、フラップ手術において歯根面を露出させる場合には、その露出面に、用時調製した本発明の歯科用粘稠製剤を塗布、注入などする。適用回数は、歯周疾患の種類、重症度などによって異なるが、例えば歯周病におけるフラップ手術において使用する際は、歯根面などの患部に一度適用した後患部を縫合するため、本製剤は一度適用するのみである。

【0025】

【実施例】

以下に、本発明の歯科用粘稠製剤について更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、以下の実施例及び試験例において使用するヒト b FGF としては、トラフェルミン（遺伝子組換え）を用いた。

実施例 1

水 485ml に HPC (HPC-H (日本曹達製)、15.0g) を徐々に添加し、粒子が完全に分散溶解するまで攪拌を続けて、HPC 粘稠液を得た。アンプルに 2ml ずつ分注した後融封し、オートクレーブ滅菌した。得られた HPC 粘稠液は、10082.0mPa・s の粘度を有していた (25℃ で E 型粘度計を使用して測定した。また以降の実施例及び試験例においては、特に断らない限り、粘度は実施例 1 と同じ条件で測定した)。別に、それぞれ 0.89、2.67 又は 8.00mg/ml のヒト b FGF を含有するクエン酸塩／白糖緩衝液 (pH 5.1、1.0ml) をろ過滅菌し、バイアル中で凍結乾燥した。これら凍結乾燥品に、上記の滅菌した HPC 粘稠液 (1.0ml) を加えて、攪拌し、静置脱泡を行い、本発明の歯科用粘稠製剤を得た (それぞれ製剤例 1a (0.89mg/ml)、製剤例 1b (2.67mg/ml) とする)。

【0026】

実施例 2

水 87ml に HPC (HPC-H (日本曹達製)、3.0g) および白糖 9.0g を徐々に添加し、粒子が完全に分散溶解するまで攪拌を続けて、HPC 粘稠液を得た。この HPC 粘稠液を冷却、攪拌しながら、10.1mg/ml のヒト b FGF

Fを含有するクエン酸塩緩衝液（pH 5.1、1.0ml）を徐々に添加し、均一になるまで攪拌し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

【0027】

実施例 3

0.89、2.67、又は8.00mg/mlのヒトbFGFを含有するクエン酸塩／白糖緩衝液（pH 5.1、1.0ml）をろ過滅菌し、バイアル中で凍結乾燥した。この凍結乾燥品に注射用水1mlを加えて溶解後、HPC（HPC-H（日本曹達製）、30mg）を徐々に加えて溶解し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

【0028】

実施例 4

0.89、2.67、又は8.00mg/mlのヒトbFGFを含有するクエン酸塩／白糖緩衝液（pH 5.1、1.0ml）をろ過滅菌し、HPC（HPC-H（日本曹達製）、30mg）を徐々に加えて溶解後、バイアル中で凍結乾燥した。この凍結乾燥品に、水（1ml）を加えて、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

【0029】

実施例 5

0.89、2.67、又は8.00mg/mlのヒトbFGFを含有するクエン酸塩／白糖緩衝液（pH 5.1、1.0ml）をろ過滅菌し、バイアル中で凍結乾燥した。別に、HPC（HPC-H（日本曹達製）、30mg）を徐々に水（1ml）で溶解後、バイアル中で凍結乾燥した。これら凍結乾燥品に水（0.5mlずつ）を加えて溶解し、両者を混和し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

【0030】

実施例 6

0.89、2.67、又は8.00mg/mlのヒトbFGFを含有するクエン酸塩／白糖緩衝液（pH 5.1、1.0ml）をろ過滅菌し、HPC（HPC-H（日本曹達製）、30mg）を徐々に加えて溶解し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

【0031】

実施例 7

HPC (HPC-H (日本曹達製)、60mg) に水 (1ml) を加えて溶解し、これを、ろ過滅菌した 5.34 mg/ml のヒト bFGF を含有するクエン酸塩／白糖緩衝液 (pH 5.1、1.0ml) に加えて混和し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

【0032】

実施例 8 の製剤

HPC (HPC-H (日本曹達製)、30mg) を徐々に水 (1ml) に溶解した後、バイアル中で凍結乾燥した。この凍結乾燥品にろ過滅菌した 0.89、2.67、又は 8.00 mg/ml のヒト bFGF を含有するクエン酸塩／白糖緩衝液 (pH 5.1、1.0ml) を加えて溶解し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

【0033】

実施例 9

HPC (HPC-H (日本曹達製)、60mg) を徐々に水 (1ml) に溶解した後、バイアル中で凍結乾燥した。この凍結乾燥品に水 (1ml) を加えて溶解し、ろ過滅菌した 0.89、2.67、又は 8.00 mg/ml のヒト bFGF を含有するクエン酸塩／白糖緩衝液 (pH 5.1、1.0ml) を加えて混和し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

【0034】

試験例 1

本発明の歯科用粘稠製剤中の bFGF の安定性を検討した。

実施例 1 で得た製剤 (1a、1b) を 25℃ の恒温槽に保存し、経時的に HPLC 法により bFGF の残存率を測定した。その結果を表 1 に示す。

【0035】

【表 1】

時間 (hr)	bFGF 残存率 (%)	
	製剤 1a	製剤 1b
8	98.7	98.6
24	98.1	99.6
42	99.1	98.9

【0036】

表1に示す結果より、本発明の歯科用粘稠製剤は、調製の42時間後でも、bFGFを安定に保持していることが確認された。

【0037】

試験例2

フランツ型拡散セルを用いて、実施例1で得た製剤(1b)の薬物放出性を、対照としてbFGFの水溶液(bFGF濃度:0.267重量%)を用い、その拡散セルのレセプター相へのbFGF放出率を検討した。セルロース製の膜を通過してくるレセプター相のbFGFの量を経時的にHPLC法で定量し、bFGF放出率を求めた。レセプター液にはクエン酸塩/白糖緩衝液を使用した。その結果を図1に示した。

図1に示す結果によると、本発明の歯科用粘稠製剤は、bFGF水溶液よりも長時間にわたってbFGFを局所に貯留させる傾向を示し、長時間にわたって一定速度でbFGFを放出するパターンを示した。

【0038】

試験例3

SD系雄性ラット(7週齢)の左後肢の腓骨近傍に、 ^{125}I ラベル化bFGFを含有する本発明の歯科用粘稠製剤(bFGF濃度:0.97mg/ml; HPC濃度:3%; 粘度:10423mPa·s)又は ^{125}I ラベル化bFGF水溶液を筋肉内投与(50 μl)した。bFGF投与量は、ラット1匹当たり48.52 μg 、放射ラベル化bFGFとしては、1匹当たり264.29kBqであった。投与15分後、30分後及び6時間後に投与部位での ^{125}I ラベル化bFGFを測定した。投与した組織中の放射能残存率を図2に示した。各値は、3例の平均 \pm 標準偏差を表す。

図2に示す結果によると、本発明の歯科用粘稠製剤を筋肉内投与すると、bFGF水溶液を投与した場合と比べて、bFGFの血中への移行が遅く、本発明の粘稠製剤を投与されたラットでは、投与15分後でも、放射ラベル化bFGFの90.6%が投与部位に残存しており、bFGF水溶液を投与した場合と比較す

ると、本発明の製剤を投与した方が、投与部位における b F G F 残存率が有意に高かった ($0.01 < p \leq 0.05$ 、Student の t 検定)。また、投与 6 時間後まで水溶液よりも本発明製剤の方が、投与部位での b F G F の残存率が高かった。

【0039】

試験例 4

比放射能 $25 \text{ kBq}/\mu\text{g}$ の ^{125}I ラベル化 b F G F を用い、ウサギの右下顎の歯槽骨欠損部位に、以下の表 2 に示す組成の本発明の歯科用粘稠製剤又は ^{125}I ラベル化 b F G F 水溶液 $50 \mu\text{l}$ を投与し、投与 6 時間後の ^{125}I ラベル化 b F G F の残存活性を測定した。

【0040】

【表 2】

	^{125}I ラベル化 b F G F 濃度	H P C 濃度	粘度 ($\text{mPa}\cdot\text{s}$)	b F G F 投与量 (μg)
^{125}I ラベル化 b F G F 水溶液	0.99 mg/ml	0	0	49.5
本発明の 粘稠製剤 1	1.67 mg/ml	1 %	53	83.5
本発明の 粘稠製剤 2	1.71 mg/ml	2 %	1126	85.5
本発明の 粘稠製剤 3	1.05 mg/ml	3 %	7898	52.5

【0041】

具体的には、ウサギをネンブタール麻酔下 (50 mg/ml 溶液を約 3 ml 投与) に、腹ばいに保持し、キシロカインにより局所麻酔し (約 20 mg/ml 溶液を約 1 ml 投与)、切歯から臼歯に向けて下顎に沿って切開し、骨膜を剥離し、2 壁性欠損を作成した (幅: 約 4 mm ; 高さ: 約 4 mm ; 深さ: 約 8 mm)。止血後、本発明の歯科用粘稠製剤又は ^{125}I ラベル化 b F G F 水溶液 $50 \mu\text{l}$ を右下顎 (欠損部を含む右切歯から臼歯の手前まで) および右歯肉 (切開、縫合した歯肉) の欠損部位に投与し、30 秒間静止してから、縫合した。投与 6 時間後に全採血後、右下顎お

よび右歯肉を摘出し、 γ カウンターで放射活性を測定した。投与直後に対する投与6時間後の ^{125}I ラベル化bFGFの残存率(%)を表3に示すとともに、図3に示す。

【0042】

【表3】

ウサギ歯槽骨欠損部位における ^{125}I ラベル化bFGFの残存率(%)			
^{125}I ラベル化bFGF水溶液	本発明の粘稠製剤1	本発明の粘稠製剤2	本発明の粘稠製剤3
27.2	50.7	54.0	73.0

【0043】

上記の結果より、bFGF水溶液を投与した場合に比べて、本発明の粘稠製剤を投与した場合、投与6時間後でも、投与部位、特に右歯肉にbFGFが高濃度で残存していることが認められ、この残存率は、本発明の粘稠製剤に含まれるHPC濃度が高いほど高かった。これらの結果から、本発明の粘稠製剤は、bFGF水溶液に比べて、投与後も長時間にわたって投与部位に高濃度にbFGFを残存させることが示された。

【0044】

【発明の効果】

本発明の歯科用粘稠製剤は、塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)を有効成分として含有し、更に増粘剤を含有することにより一定の粘度を有する。その結果、有効成分のbFGFが物理化学的に安定に保持され、歯周病などの各種歯周疾患の処置剤として患部に適用する際には、疾患部位に均一に塗布することができ、患部への刺激や異物感が少なく、適用された製剤が適用部位から流れ落ちることなく比較的長時間貯留することにより、製剤に含まれるbFGFが安定して患部に放出され、その結果として優れた治療効果が得られる。くわえて、本発明の製剤は、流動性があることから疾患部の凹凸や隙間などにも対応し、正確に投与することが可能である。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明の歯科用粘稠製剤及び b F G F 水溶液からの b F G F の放出曲線を示す。

【図 2】

本発明の歯科用粘稠製剤及び b F G F 水溶液をラットに筋肉内投与後の組織中 ^{125}I ラベル化 F G F の残存率を示す。

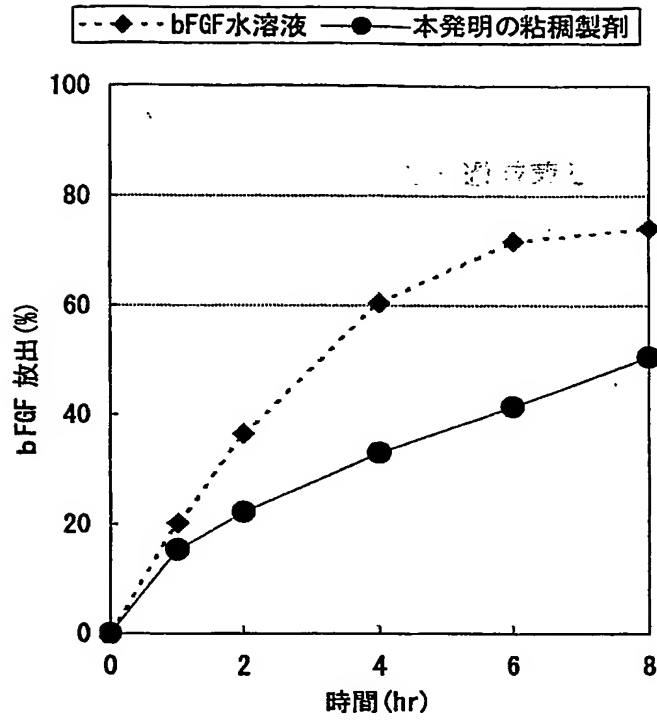
【図 3】

本発明の歯科用粘稠製剤及び b F G F 水溶液をウサギに投与した場合の投与直後に対する投与 6 時間後の ^{125}I ラベル化 b F G F の残存率 (%) を示す。

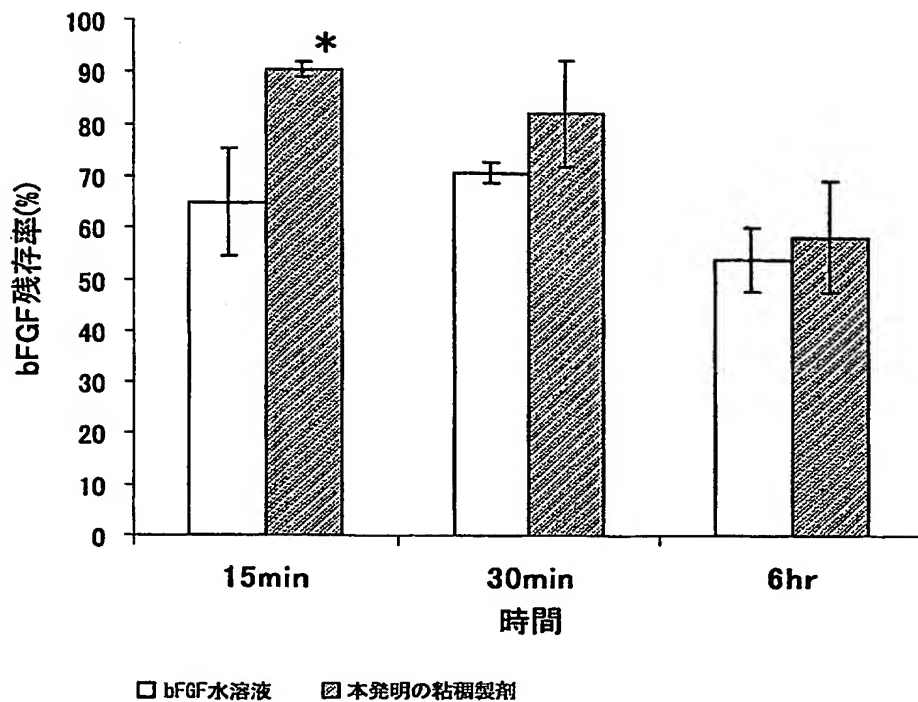
【書類名】

図面

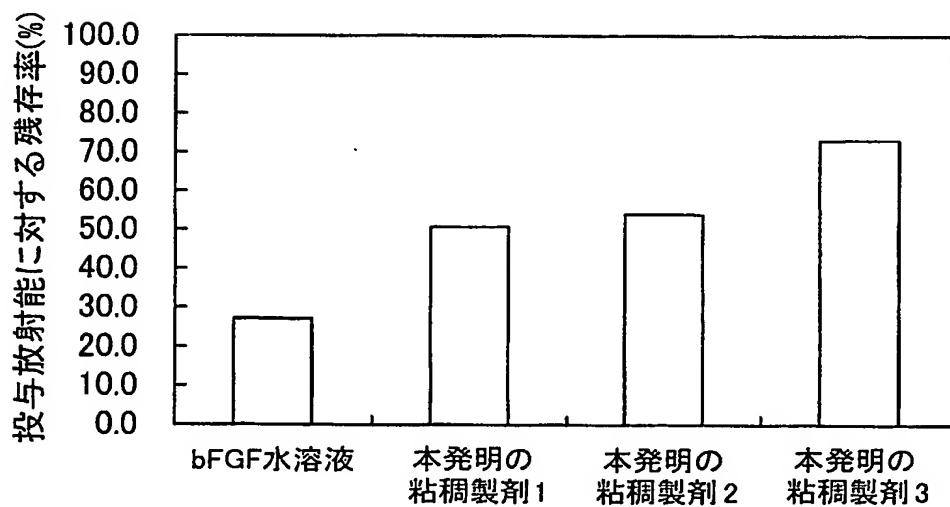
【図 1】



【図 2】



【図 3】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 b F G F を安定に保持し、低含量の b F G F を定量的かつ多様な形状の患部に均一に塗布することができ、局所貯留性にすぐれた製剤を提供する。

【解決手段】 塩基性線維芽細胞増殖因子（b F G F）を有効成分として含有し、更に増粘剤を含有する歯科用粘稠製剤；歯科用粘稠製剤を調製するためのキット；並びに歯科用粘稠製剤を調製する方法。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000124269]

1. 変更年月日

1990年 8月10日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都文京区本駒込2丁目28番8号

氏 名

科研製薬株式会社